

Ekspresi Heat Shock Protein 70 (HSP70) dan Caspase-3 sebagai Prediktor terhadap Operabilitas Kanker Serviks Stadium IIB setelah Mendapat Kemoterapi Neoajuvant Paclitaxel-Carboplatin

HERMAWAN UDIYANTO,¹ BRAHMANA ASKANDAR², DYAH FAUZIAH³

¹Divisi Onkologi Ginekologi, Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta

²Divisi Onkologi Ginekologi, Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

Diterima 20 Juli 2013; Direview 21 Agustus 2013; Disetujui 28 Agustus 2013

ABSTRACT

Objective: To investigate the expression of HSP70 protein and Caspase-3 in patients with stage IIB cervical cancer to predict operability response of preoperative neoajuvant chemotherapy (NACT) Paclitaxel-Platinum 3 series. **Methods:** Paraffin wax embedded tissue sections from 40 cases of eligible patients with stage IIB cervical carcinoma were studied immunohistochemically using anti HSP70 and caspase-3 antibodies. Eligible patients were required to have stage II B cervical cancer, evaluated for operability by clinical exam, according to system adopted by FIGO and received neoajuvant chemotherapy (NACT) Paclitaxel-Platinum (every 3 weeks for 3 cycles). Analytic study with case control approach in dr. Soetomo hospital at the Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Airlangga University, Surabaya from Dec 2006-July 2011. Evaluation of therapeutic efficacy (operability) did not follow the therapeutic response based on RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid tumours) criteria. Operability of the tumour, a condition where the cervical cancer clinical examination of the vagina (vaginal touché / VT) and rectal examination by a team of gynaecologic oncology patients receiving chemotherapy after Paclitaxel-Carboplatin neoajuvant 3 series stated that the clinical parametrical tumour infiltration was not found. Time checks 3-4 weeks after the last administration of chemotherapy.

Results: The relationship between the expression of HSP70 and caspase-3 with operability post neoajuvant chemotherapy (NACT) Paclitaxel-Carboplatin analyzed with logistic regression. Expression of HSP70 positive and HSP70 negative has the same total amount, i.e. 20 people (50%), 9 people in the operable group and 11 people in the inoperable group respectively. There is no significant difference relationship between operability and HSP70 ($p = 1$), with OR = 1.00 (95% CI: 0.28 to 3.47). Expression of caspase-3 positive in 24 people (60.0%), 13 people in the operable group and 11 people in the inoperable group respectively. Expression of Caspase-3 negative in 16 people (40.0%), 5 people in the operable group and 11 people in the inoperable group respectively. There is no significant difference relationship between the expression of caspase-3 and operability ($p = 0.154$), with OR = 0.06. (95% CI: 0.69 to 9.81). The combination between the expression of HSP70 (+) and expression of caspase-3 (-), as many as 8 people (20%), 2 people in the operable group and 6 in the inoperable group respectively. While the group besides to a combination of the expression of HSP70 (+) and expression of caspase-3 (-) is 32 people (80%), 16 people in the inoperable group and 16 people in the operable group respectively. There is no significant difference in the relationship between a combination of HSP70 expression (+) and expression of caspase-3 (-) and operability ($p = 0.217$), with an OR = 3.0 (95% CI: 0.525 to 17.159).

Conclusion: Expression of HSP70 and caspase-3 can not be used as a predictor of operability in stage IIB cervical cancer who received neoajuvant chemotherapy (NACT) Paclitaxel-Carboplatin.

Keywords: Cervical cancer stage IIB, neoajuvant chemotherapy (NACT) Paclitaxel-Carboplatin, operability pasca neoajuvant chemotherapy (NACT).

KORESPONDENSI:

dr. Hermawan Udiyanto,
SpOG
Divisi Onkologi Ginekologi
Departemen Obstetri
& Ginekologi
FK Universitas Sebelas
Maret Surakarta
Email:

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran ekspresi HSP70 dan Caspase-3 terhadap keberhasilan operabilitas kanker serviks stadium IIB setelah pemberian kemoterapi neoadjuvant *Paclitaxel-Carboplatin* 3 seri. Metode: ekspresi HSP70 dan caspase-3 diperiksa dengan pengecatan imunohistokimia pada 40 potongan biopsi jaringan pasien kanker serviks IIB yang memenuhi kriteria inklusi, yang melakukan pengobatan di RSUD dr. Soetomo, Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya, mulai Desember 2006 hingga Juli 2011. Kriteria inklusi meliputi penderita yang telah dilakukan evaluasi keberhasilan terapi (operabilitas) pasca-kemoterapi neoadjuvant *Paclitaxel-Carboplatin* sebanyak 3 seri berturut-turut, dengan interval pemberian 3 minggu. Evaluasi keberhasilan terapi (operabilitas) tidak mengikuti kriteria respons terapi berdasarkan RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumours*). Waktu pemeriksaan 3–4 minggu setelah pemberian kemoterapi yang terakhir. Operabilitas tumor, yaitu kondisi klinis kanker serviks di mana pada pemeriksaan dalam vagina (vaginal toucher/VT) dan pemeriksaan dalam rektum oleh tim ginekologi onkologi setelah penderita mendapatkan kemoterapi neoadjuvant *Paclitaxel-Carboplatin* 3 seri dinyatakan bahwa pada parametrium secara klinis tidak didapatkan infiltrasi tumor. Jenis dan bentuk penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional, studi *case control* pada penderita kanker serviks IIB yang mendapat kemoterapi neoadjuvant *Paclitaxel-Carboplatin* sebanyak 3 kali dengan interval pemberian kemoterapi 3 minggu.

Hubungan antara ekspresi HSP70 dan caspase-3 dengan operabilitas post-kemoterapi neoadjuvant *Paclitaxel-Carboplatin* dianalisis dengan regresi logistik. Ekspresi HSP70 negatif dan HSP70 positif mempunyai jumlah total yang sama, yaitu 20 orang (50%), masing-masing 9 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Tidak ada perbedaan yang bermakna hubungan antara HSP70 dengan operabilitas ($p = 1$), dengan OR = 1,00 (95%CI : 0,28-3,47). Ekspresi caspase-3 positif sebanyak 24 orang (60,0%), masing-masing 13 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Pada ekspresi Caspase-3 negatif, sebanyak 16 orang (40,0%), masing-masing 5 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Tidak ada perbedaan yang bermakna hubungan antara ekspresi caspase-3 dengan operabilitas ($p = 0,154$), dengan OR = 0,06 (95%CI : 0,69-9,81). Kombinasi antara ekspresi HSP70 (+) dan ekspresi caspase-3 (-), sebanyak 8 orang (20%), masing-masing 2 orang pada kelompok operabel dan 6 orang pada kelompok inoperabel. Sedangkan pada kelompok selain kombinasi antara ekspresi HSP70 (+) dan ekspresi caspase-3 (-) sebanyak 32 orang (80%), masing-masing 16 orang pada kelompok inoperabel dan 16 orang pada kelompok operabel. Tidak ada perbedaan yang bermakna hubungan antara kombinasi ekspresi HSP70 (+) dan ekspresi caspase-3 (-) dengan operabilitas ($p = 0,217$), dengan OR = 3,0 (95%CI : 0,525-17,159).

Kesimpulan: ekspresi HSP70 dan caspase-3 tidak dapat dijadikan sebagai prediktor operabilitas pada kanker serviks stadium IIB yang mendapatkan neoadjuvant kemoterapi *Paclitaxel-Carboplatin*.

Kata kunci: Kanker serviks stadium IIB, kemoterapi neoadjuvant *Paclitaxel-Carboplatin*, operabilitas pascakemoterapi neoadjuvant.

PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan kanker yang terbanyak kedua pada wanita di dunia dan merupakan kanker wanita terbanyak di negara berkembang. Baik angka insidensi maupun angka mortalitas kelihatannya lebih besar di negara-negara dengan sumber daya yang rendah karena sistem registrasi yang jelek. Di Amerika Serikat, diperkirakan pada 2009 terdapat 11.270 kasus baru dan 4.070 kematian.¹ Penyakit ini banyak terdapat pada wanita Amerika Latin, Afrika, dan negara-negara berkembang lainnya di Asia, termasuk Indonesia. Di dunia, setiap 2 menit, seorang wanita meninggal akibat kanker serviks, di Indonesia, setiap 1 jam.²

Di Indonesia diperkirakan ditemukan 40 ribu kasus baru kanker mulut rahim setiap tahun. Menurut data kanker berbasis patologi di 13 pusat laboratorium patologi, kanker serviks merupakan penyakit kanker yang memiliki jumlah penderita terbanyak di Indonesia, yaitu lebih kurang 36%. Dari data 17 rumah sakit di Jakarta 1977, kanker serviks menduduki urutan pertama, yaitu 432 kasus di antara 918 kanker pada perempuan.³ Terapi utama kanker serviks meliputi operasi dan radiasi karena kanker serviks merupakan kanker ginekologik yang kurang sensitif terhadap kemoterapi.⁴ Pada umumnya, kasus stadium lanjut (stadium IIB, III dan IV) diberikan terapi radiasi secara intrakaviter (brakhiterapi) dan eksternal, sedangkan untuk stadium awal dapat diobati dengan pembedahan atau radiasi.⁵ Standar terapi primer kanker serviks stadium IIB menurut FIGO adalah radiasi yang diberikan secara intrakaviter (brakhiterapi) dan eksternal dengan konkuren kemoterapi atau konkumitan kemoradiasi.^{6,7}

Saat ini, kemajuan di bidang biomolekuler meningkatkan pemahaman mengenai mekanisme molekuler yang terjadi dalam proses pemberian kemoterapi pada penderita kanker. Kemoterapi telah diketahui membunuh sel dengan menginduksi apoptosis di mana ada suatu proses yang memerintahkan program kematian sel.^{8,9} Apoptosis adalah program bunuh diri intraseluler yang dilaksanakan dalam upaya untuk bertahan hidup, sel kanker mengembangkan mekanisme untuk mencegah apoptosis. Resistansi obat kemoterapi dapat terjadi ketika sel-sel yang mengalami kerusakan gagal untuk menjalani apoptosis.¹⁰

Kegagalan pemberian kemoterapi melibatkan mekanisme molekuler yang berperan dalam proses resistansi obat. Untuk mengetahui penyebab resistansi obat kemoterapi diperlukan pemahaman

mengenai faktor yang terlibat dalam mekanisme resistansi tersebut.

Caspases adalah mediator penting dari kematian sel terprogram (apoptosis). Di antara mereka, caspase-3 yang sering diaktifkan oleh *death protease/protease* kematian.¹¹ Secara umum, mekanisme untuk menghindari apoptosis dapat terjadi secara luas, dibagi menjadi: 1) gangguan keseimbangan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis; 2) penurunan fungsi caspase; dan 3) gangguan sinyal reseptor kematian (*death receptor*).¹²

HSP70 diperkirakan mempunyai peran dalam mekanisme resistansi terhadap kemoterapi. HSP70 adalah protein yang terinduksi secara kuat setelah stres seperti pemberian obat antikanker, stres oksidatif, atau iradiasi. HSP70 terekspresi secara berlebih pada sel kanker. Oleh karena itu, telah diusulkan sebagai faktor prognostik penting dalam penyakit-penyakit keganasan.^{13,14}

Protein-protein HSP telah terbukti dapat memblokir apoptosis dengan mengganggu aktivasi caspase. Overekspresi dari HSP70 dapat menghambat apoptosis dan mencegah aktivasi caspase dalam berbagai model seluler melalui berbagai stres seluler, termasuk akumulasi dari protein yang gagal melipat, *reactive oxygen species* (ROS) atau kerusakan DNA.^{14,15}

Sebaliknya, deplesi HSP70 dapat meningkatkan sensitivitas sel untuk menginduksi stimuli apoptosis. Protein-protein HSP dapat memblokir baik jalur apoptosis intrinsik maupun ekstrinsik melalui interaksi dengan protein kunci pada tiga tingkatan: i) *upstream* dari mitokondria, dengan demikian memodulasi sinyal jalur; ii) pada tingkatan mitokondria, dengan mengontrol pelepasan molekul apoptogenik; iii) dan tingkatan post-mitokondria, dengan memblokir apoptosis dari fase akhir setiap obat peningkatan kelangsungan hidup yang diketahui (*survival enhancing drug*) atau protein.¹³

Berdasarkan keterangan di atas maka diperlukan suatu prediktor terhadap keberhasilan respons kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Carboplatin* pada penderita kanker serviks stadium IIB, agar bisa diperkirakan keberhasilan pemberian kemoterapi neoajuvant, sehingga bisa memberikan terapi yang tepat pada kanker serviks stadium IIB, mengingat efek samping pemberian kemoterapi dan risiko terjadinya resistansi.

Namun, seberapa besar peran Caspase-3 dan HSP 70 dalam memprediksi respons kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Carboplatin* pada penderita kanker serviks stadium IIB masih belum diketahui.

MATERI DAN METODE

Pada penelitian ini, sampel jaringan serviks diperoleh dari 40 penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Carboplatin* yang memenuhi kriteria inklusi. Seluruh penderita didiagnosis dan mendapatkan kemoterapi neoajuvant antara Desember 2006 hingga Juli 2011 di RSUD dr. Soetomo Surabaya, dengan kriteria inklusi: mendapatkan regimen kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Carboplatin* sebanyak tiga seri, dengan interval 3 minggu, dan telah dilakukan evaluasi operabilitas pasca-kemoterapi neoajuvant yang dilakukan sebelum operasi.

Pewarnaan imunohistokimia dilakukan dengan memakai teknik paraffin blok fiksasi neutral buffer formalin dan menggunakan metode *Labelled Streptavidin Biotin II (LSAB II)*. Slide dicelupkan dalam larutan Xilol 1, Xilol 2, dan Xilol 3 masing-masing selama 5 menit, dilanjutkan dengan mencelupkan dalam larutan alkohol secara bertahap dengan konsentrasi menurun, berturut-turut alkohol 99 % hingga 70%, masing-masing selama 2 menit. Lalu preparat dimasukkan dalam H₂O₂ 0,3 % dalam Dakocytomation (Peroxidase blocking reagent S200/30-2) pada suhu kamar selama 5 menit, kemudian dibilas dengan aquadest selama 5 menit. TRS dihangatkan pada *microwave* selama 2 menit, kemudian low *microwave* selama 20 menit lalu cuci dengan aquadest selama 5 menit. Cuci dengan TRIS Buffer/TWEEN 20 selama 5 menit dan diisap dengan menggunakan tissue sekitar area sayatan jaringan. Dibuat *marking pen immunologic* di sekeliling sayatan jaringan sesuai kebutuhan. Kemudian ditetaskan Protein Block Serum Free.X. 0909, pada suhu kamar selama 5 menit dan diisap dengan menggunakan tissue sekitar area *marking pen immunologic*. Kemudian ditetaskan antibodi primer dalam area *marking pen immunologic*, dilanjutkan dengan inkubasi pada *Magnetic Immunostaining* dalam keadaan tertutup pada suhu kamar selama 1 jam, kemudian dilanjutkan pada suhu 4°C. Kemudian dicuci dengan TRIS Buffer/ Tween.20 dengan shaker selama 5 menit dan diisap menggunakan tissue di sekitar area *marking pen immunologic*. Meneteskan antibodi sekunder (Universal LSAB), dilanjutkan meneteskan HRP (*streptavidin peroxidase conjugate*), lalu DAB dalam area *marking pen immunologic* pada suhu kamar selama 5-10 menit. Tahap VI (*counter stain*) memasukkan preparat /slide imunohistokimia ke dalam *Meyer's Haematoxyllin* pada suhu kamar selama 2 menit. Selanjutnya dicuci dengan

menggunakan air mengalir selama 5 menit. Proses dilanjutkan dengan mencelupkan preparat dalam larutan alkohol secara bertahap dengan konsentrasi meningkat. Selanjutnya slide dicelupkan dalam larutan Xilol dan terakhir dilakukan mounting medium dengan EZ-Mount.

Derajat ekspresi pewarnaan HSP70 dan caspase-3 dilihat dari persentase kelompok sel yang terwarnai dan intensitas pewarnaan. Persentase didapatkan dari hasil penjumlahan sel yang positif pada seluruh lapangan pandang sediaan tumor yang diperiksa dengan memakai mikroskop cahaya. Saat ini tidak terdapat sistem *scoring* yang baku, namun berdasarkan berbagai referensi, sistem *scoring* yang lazim digunakan adalah sebagai berikut: Skor 0, bila tidak ada sel yang terwarnai atau tidak terdapat sel imunoreaktif; Skor 1, bila sel positif berjumlah <10%; Skor 2, bila sel positif antara 10-50%; dan skor 3, bila sel positif >50%. Hasil skoring selanjutnya diinterpretasi negatif (-) jika skor 0 atau 1, dan diinterpretasi positif (+) bila skor 2 atau 3.¹⁶

HASIL

Uji statistik untuk menganalisis hubungan antara ekspresi HSP70 dan caspase - 3 dengan operabilitas serta hubungan antara operabilitas dengan beberapa faktor klinikopatologi adalah uji Logistic regression, dengan metode *case control*. Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel 40 sediaan blok parafin jaringan biopsi serviks uteri dari pasien kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvant dan melalui pemeriksaan operabilitas pra-operasi oleh tim onkologi. Poli Onkologi Ginekologi Satu Atap (POSA) Bagian Ginekologi Onkologi dan Ruang Kandungan RSUD dr. Soetomo, Surabaya, dari Desember 2006 hingga Juli 2011. Penelitian ini dilakukan dengan metode *case-control*. Pemeriksaan dilakukan di bagian Patologi Anatomi untuk menilai level ekspresi caspase - 3 dan HSP70 menggunakan metode imunohistokimia pada April-Juli 2012.

Tabel 1 menyajikan profil klinikopatologi penderita. Karakteristik yang dievaluasi adalah umur, paritas, BMI, dan jenis histopatologi kanker serviks.

Usia pasien rata-rata 49,91 tahun, dengan usia termuda 37 tahun dan tertua 62 tahun. Paritas rata-rata 3,14, dengan anak paling sedikit 1 dan paling banyak 6 orang. Sampel memiliki rata-rata BMI 22,31 atau normal, dengan BMI paling kecil 14,52 dan BMI paling besar 35,67.

Tabel 1: Karakteristik klinik penderita kanker serviks berdasarkan kategori stadium, jenis histopatologi, dan derajat diferensiasi kanker serviks

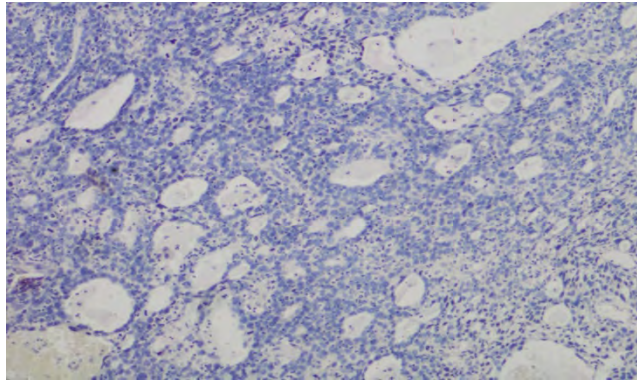
Karakteristik Klinik	Kanker Serviks		Total
	Inoperabel	Operabel	
Umur (tahun)			
30-39	1	3	4(10%)
40-49	11	10	21 (52,5%)
> 50	10	5	15 (37,5%)
Paritas			
< 1 anak	1	2	3 (7,5%)
2-4 anak	17	11	28 (70%)
>5 anak	4	5	9 (22,5%)
BMI			
Kurus	4	1	5 (12,5%)
Normal	10	11	21 (52,2%)
Overweight	5	6	11(27,5%)
Obesitas	3	0	3 (7,5%)
Jenis histopatologi			
Adenokarsinoma	6	4	10 (25%)
Squamous	13	13	26 (65%)
Adenosquamous	3	1	4 (10%)

Ekspresi HSP 70 negatif dan HSP 70 positif mempunyai jumlah total yang sama, yaitu 20 orang (50%), masing-masing 9 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Tidak ada perbedaan yang bermakna hubungan antara HSP 70 dengan operabilitas ($p = 1$), dengan $OR = 1,00$ (95%CI : 0,28-3,47).

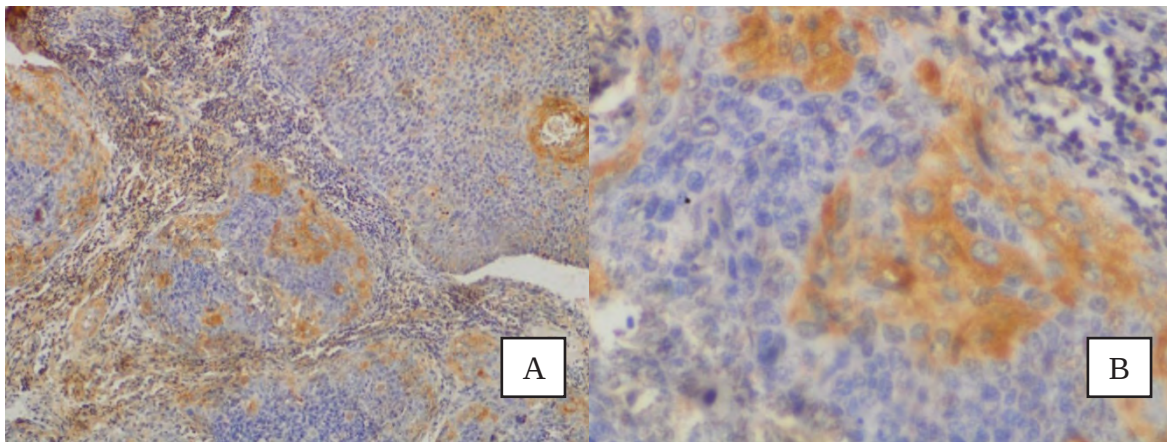
Berlawanan dengan harapan kami di mana secara teoritis bila ekspresi HSP70 negatif maka akan memberi luaran operabel lebih besar dibandingkan dengan HSP70 positif. Pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan antara ekspresi HSP70 yang negatif dengan operabilitas yang rendah pada pasien kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Carboplatin*.

Tabel 2: Hubungan ekspresi HSP70 dengan operabilitas

Ekspresi HSP70	Outcome		Total	Nilai p	OR	95%CI
	Operabel	Inoperabel				
Negatif	9 (50%)	11 (50%)	20 (50%)	1,00	1,00	0,28-3,47
Positif	9 (50%)	11 (50%)	20 (50%)			
Jumlah	18(100%)	22(100%)	40 (100%)			

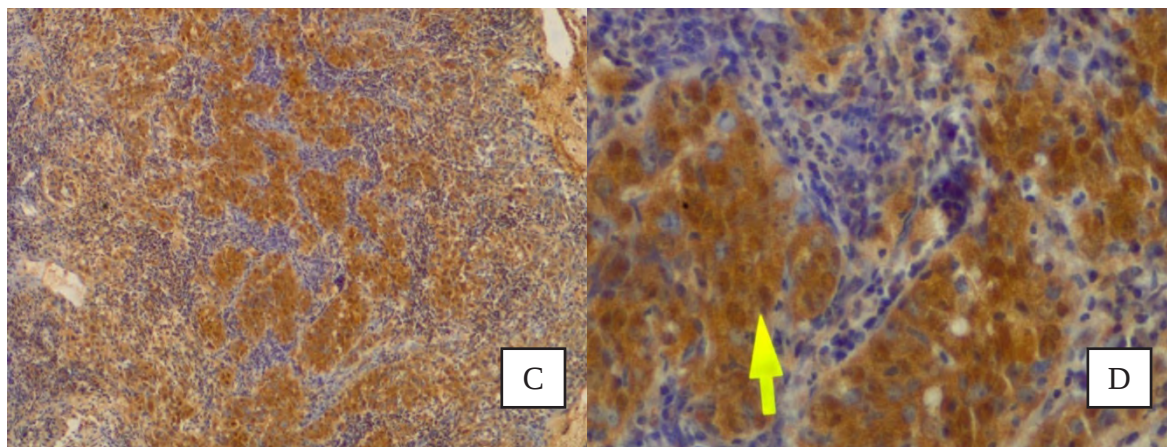


Gambar 1: Pewarnaan imunohistokimia HSP 70 negatif (-), pada kanker serviks, pembesaran 100 kali



HSP 70, sitoplasma (+), inti (-) 100 X

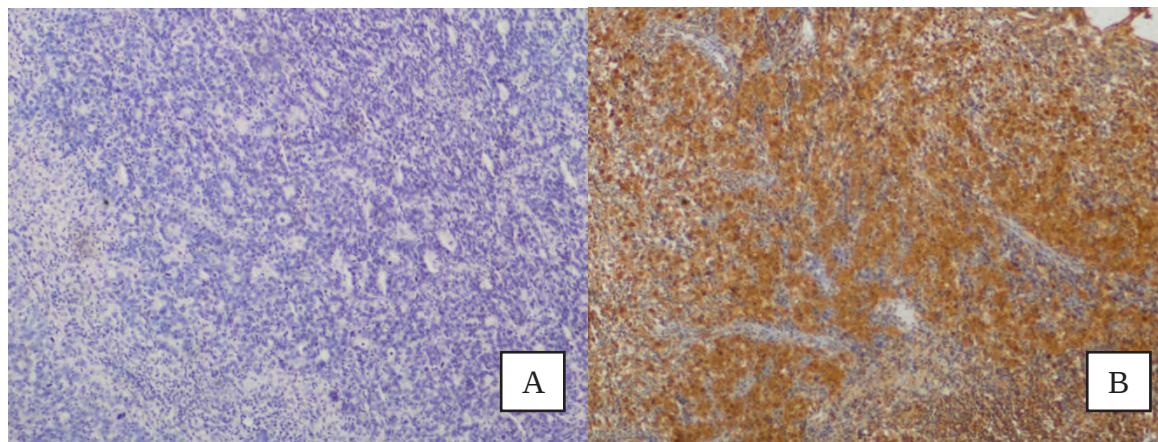
HSP 70, sitoplasma (+), inti (-) 400 X



HSP 70, sitoplasma& inti (+) 100 X

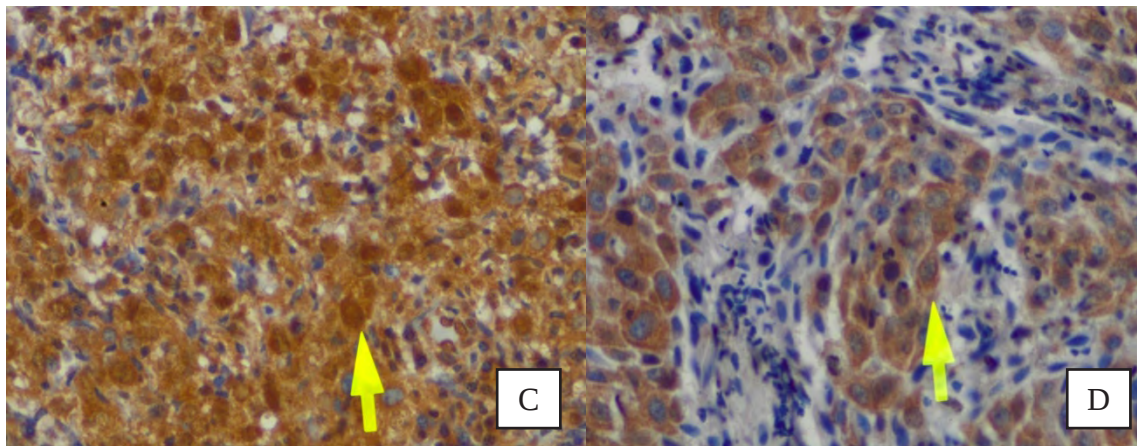
HSP 70, sitoplasma & inti (+) 400 X

Gambar 2: Pewarnaan imunohistokimia HSP 70 pada kanker serviks, pembesaran 100 kali dan 400 kali



Caspase-3 negatif(-) , pembesaran 100 X

Caspase-3 sitoplasma& inti (+) , 100 X



Caspase-3, sitoplasma& inti (+), 400 X

Caspase-3, sitoplasma (+)& inti (-) 400 X

Gambar 3: Pewarnaan imunohistokimia caspase-3 pada kanker serviks, pembesaran 100 kali dan 400 kali

Tabel 3: Hubungan ekspresi caspase 3 dengan operabilitas

Ekspresi caspase3	Outcome		Total, n=40	Harga p	OR	CI95%
	Operabel, n=18	Inoperabel, n=22				
Positif	13 (72,2)	11 (50,0)	24 (60,0)	0,158	2,60	0,69 – 9,81
Negatif	5 (27,8)	11 (50,0)	16 (40,0)			

Ekspresi caspase-3 positif sebanyak 24 orang (60,0%), masing-masing 13 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Pada ekspresi caspase-3 negatif sebanyak 16 orang (40,0%); masing-masing 5 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Tidak ada perbedaan yang bermakna hubungan

antara ekspresi caspase-3 dengan operabilitas ($p = 0,154$), dengan OR = 0,06.(95%CI : 0,69-9,81).

Pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan antara ekspresi caspase 3 yang positif dengan operabilitas yang rendah pada pasien kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Platinum*.

DISKUSI

Jenis dan bentuk penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional, studi *case control* pada penderita kanker serviks IIB yang mendapat kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Carboplatin* sebanyak 3 kali dengan interval pemberian kemoterapi 3 minggu. Jumlah subjek penelitian sebanyak 40 sampel yang didapatkan secara *consecutive random sampling* dan yang telah melalui pemeriksaan operabilitas setelah pemberian kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel-Carboplatin*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok umur pada subjek penelitian ini yang terbanyak adalah umur 40 – 49 tahun dengan jumlah keseluruhan 21 orang (52,5%), dengan pendidikan subjek penelitian adalah Sekolah Dasar (SD) sebanyak 29 orang (75,5%); Paritas terbanyak adalah multiparitas; total sebanyak 28 orang (70,0%), dan *Body Mass Index* (BMI). Sebagian besar adalah normal dan total sebanyak 21 orang (52,5%). Gambaran histopatologi *Squamous* merupakan kelompok yang terbanyak, yaitu 26 orang (65%).

Sebaran ekspresi HSP70 dan operabilitas dengan jumlah terbanyak pada kelompok skor 0 (tidak ada sel yang terwarnai atau tidak terdapat sel imunoreaktif), jumlah total 18 orang (45,0%), di mana ekspresi HSP 70 negatif dan HSP 70 positif mempunyai jumlah total yang sama, yaitu 20 orang (50%), masing-masing 9 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Tidak ada perbedaan yang bermakna hubungan antara HSP 70 dengan operabilitas ($p = 1$), dengan OR = 1,00.

Dari hasil penelitian ini, ekspresi HSP70 tidak dapat dijadikan sebagai prediktor operabilitas pada kanker serviks stadium IIB yang mendapatkan neoajuvant kemoterapi. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesis yang dibuat dalam penelitian ini, yaitu ekspresi HSP 70 dapat menjadi prediktor operabilitas kanker serviks stadium IIB setelah mendapat kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel - Carboplatin* 3 seri.

Sebaran ekspresi Caspase-3 dan operabilitas dengan jumlah terbanyak pada kelompok skor 2 (sel yang terwarnai berjumlah antara 10% dan hingga 50%), jumlah total 16 orang (40,0%), ekspresi caspase-3 positif sebanyak 24 orang (60,0%), masing-masing 13 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Pada ekspresi caspase-3 negatif sebanyak 16 orang (40,0%), masing-masing 5 orang pada kelompok operabel dan 11 orang pada kelompok inoperabel. Tidak ada perbedaan yang bermakna hubungan antara ekspresi

caspase-3 dengan operabilitas ($p = 0,158$), OR = 2,60 (CI 95% = 0,069-9,8). Dari hasil penelitian ini, ekspresi caspase-3 tidak dapat dijadikan sebagai prediktor operabilitas pada kanker serviks stadium IIB yang mendapatkan neoajuvant kemoterapi. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesis yang dibuat dalam penelitian ini, yaitu ekspresi caspase-3 dapat menjadi prediktor operabilitas kanker serviks stadium IIB setelah mendapat kemoterapi neoajuvant *Paclitaxel - Carboplatin* 3 seri. Dalam sebuah penelitian, tidak semua caspase 3 positif mempunyai aktivitas yang sama. Pewarnaan imunohistokimia positif dari Caspase-3 terdeteksi pada 43 dari 50 (86%) kanker serviks, sedangkan Caspase-3 *immuno activity* teramati pada 21 dari 50 (42%) kanker serviks.¹⁷ Di sisi lain, mamalia sel dalam keadaan tertentu dapat menjalani caspase-*independent* apoptosis yang dimediasi oleh gangguan membran mitokondria dan translokasi dari AIF dan endonuklease G ke inti dimana mereka menginduksi kondensasi kromatin dan/atau fragmentasi DNA.¹⁸

Ada banyak cara sel ganas dapat memperoleh penurunan dalam apoptosis atau resistansi apoptosis. Secara umum, mekanisme untuk menghindari apoptosis dapat terjadi secara luas, dibagi menjadi: 1) gangguan keseimbangan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis; 2) penurunan fungsi caspase; dan 3) gangguan sinyal reseptor kematian (*death receptor*).¹²

Caspase-3 diaktifkan dalam sel apoptosis, baik oleh ekstrinsik (ligan kematian) maupun intrinsik (mitokondria) jalur.¹⁹ Fitur zymogen caspase-3 ini diperlukan karena jika tidak diatur, aktivitas caspase akan membunuh sel-sel tanpa pandang bulu.²⁰ Sebagai caspase algojo, para zymogen caspase-3 telah hampir tidak ada kegiatan sampai dibelah oleh caspase inisiator setelah terjadi sinyal apoptosis.²¹ Sinyal tersebut dapat mengenal granzyme B, yang dapat mengaktifkan caspase inisiator ke dalam sel target untuk dilakukan apoptosis oleh sel T pembunuh. Hal ini kemudian memicu aktivasi ekstrinsik ciri khas karakteristik kaskade caspase dari jalur apoptosis, di mana caspase-3 memainkan peran dominan.²² Pada aktivasi intrinsik, sitokrom c dari mitokondria dalam kombinasi dengan caspase-9, apoptosis-activating factor 1 (Apaf-1), dan ATP proses procaspase-3.¹¹

Kombinasi antara ekspresi HSP 70 (+) dan ekspresi caspase-3 (-) dengan operabilitas, sebanyak 8 orang (20%), masing-masing 2 orang pada kelompok operabel dan 6 orang pada kelompok inoperabel, masing-masing 2 orang (11,1%) operabel dan 6

orang (27,3%) inoperabel, dari uji statistik tidak ada perbedaan yang bermakna antara dua kelompok, $p = 0,272$ (OR = 3,0; 95% CI = 0,42-21,30).

Secara teori, bila ekspresi HSP70 positif dan ekspresi caspase-3 positif maka kemungkinan besar operabilitas semakin tinggi. Tetapi, pada penelitian ini hal tersebut tidak terjadi. Kenyataannya, yang ekspresi HSP70 positif dan ekspresi caspase 3 positif dibandingkan dengan yang tidak pada kelompok yang operable dan inoperable perbedaannya tidak bermakna. Dengan demikian, ekspresi HSP70 positif dan ekspresi caspase-3 positif tidak bisa dijadikan faktor prediksi operabilitas pada penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvant. Hal tersebut mungkin karena hal-hal yang terjadi pada HSP-70 dan caspase 3 seperti yang diterangkan di atas.

Pada penelitian ini, ekspresi kombinasi selain HSP-70 positif dan ekspresi caspase 3 positif dibandingkan dengan yang tidak pada kelompok yang *operable* dan *inoperable* perbedaannya tidak bermakna secara statistik. Secara keseluruhan, penelitian ini didapatkan hasil yang tidak sesuai dengan hipotesis. Ada beberapa kelemahan dalam penelitian ini, antara lain metode pemeriksaan operabilitas yang dipengaruhi oleh unsur subjektivitas walaupun sudah melalui pemeriksaan yang berlapis, tanpa pemeriksaan tambahan lain seperti CT-scan atau MRI yang bisa menambah nilai objektivitas. Selain itu, adanya variabel perancu yang tidak bisa dikontrol yang terlibat pada proses apoptosis, antara lain IAPs, BID, BIM, BH-3 only (PUMA, NOXA), p53, Bcl-2, Bcl-XL, Bax, dan Bak akan memengaruhi hasil penelitian. Keberagaman cara penyimpanan sediaan yang diambil dari beberapa tempat pemeriksaan Patologi Anatomi. Imunoreaktivitas sediaan parafin dapat menurun, karena sediaan jaringan penelitian biasanya diambil jauh sebelumnya dan disimpan untuk digunakan hingga bertahun-tahun kemudian. Dalam sebuah penelitian, Kenneth membandingkan sediaan biopsi dan kultur sel protein p53 serta antigen MIB1 yang disimpan pada suhu 20° C selama 16 minggu dengan jaringan yang baru diambil. Didapatkan setelah penyimpanan selama 2 minggu, ekspresi p53 mengalami penurunan yang signifikan. Lebih jauh lagi, penelitian ini menunjukkan bahwa pada temperatur penyimpanan yang berbeda didapatkan ekspresi yang p53 yang berbeda pula.²³ Lama waktu fiksasi dalam formalin juga menurunkan imunoreaktivitas dari beberapa epitope. Dalam beberapa kasus dikatakan bahwa waktu fiksasi dalam formalin yang terlalu lama dapat mengubah imunoreaktivitas.²⁴

DAFTAR PUSTAKA

1. Hacker NF, Friedlander ML, Cervical Cancer, in: Berek JS, Hacker NF, editors. *Berek and Hacker's Gynecologic Oncology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2010: 341-95.
2. Nuranna L, Maret Deteksi Dini & Penanggulangan Kanker Pada Anak & Perempuan di Kuningan. *Makalah seminar/workshop*, Jakarta, 2005.
3. Rasjidi I, Epidemiologi Kanker Serviks, Dalam *Indonesian Journal of Cancer*, 2009; 3(3): 103-108.
4. Bidus M.A. dan Elkas J.C. Cervical and vaginal cancer, dalam *Berek's & Novak's Gynecology* (editor Berek J.S), edisi ke-14, hal. 1403-1456, Lippincott Williams & Wilkins, USA. 2007
5. Edianto D, Kanker serviks. Dalam *Buku Acuan Nasional Onkologi Ginekologi*. Edisi pertama, Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, Jakarta, 2006: 441-445.
6. Denny L, Hacker NF, Gori J, Jones III Ngan HW, Pecorelli S, November. *Staging Classification and Clinical Practice Guidelines for Gynaecological dan IGCS*. 3th ed. Elsevier, FIGO Committee on Gynaecologic Oncology.2006
7. Kesic V, Cibula D, Kimmig R, Lopez A, Marth C, Reed N, Rodolakis AVaitkiene D, Verheijen R, Zola P, Algorithms for management of Cervical Cancer. ESGO.2010
8. Carson DA, Riberto JM, Apoptosis and disease. *The Lancet* 1993;341:1251-1254.
9. Cotran RS, et al. Robbins patologic basis of disease. 6th ed. WB Saunders Company. Tokyo- London-Sydney: 1999; 18-25.
10. Gajjarwala S dan Sevin. Mechanisms of Chemosensitivity and Resistance. *Chemotherapy for gynecological neoplasms*. Eds Angioli, dkk. Marcel dekker Inc. 2004
11. Porter AG, Jänicke RU. "Emerging roles of caspase-3 in apoptosis". *Cell Death Differ*. 1999; 6(2): 99-104.
12. Reed JC, Bcl-2 family proteins: regulators of apoptosis and chemoresistance in haematologic malignancies. *Semin Haematol* 1997;34:9-19.
13. Lanneau D, Brunet M, Frisan E, Solary E, Fontenay M, Garrido C. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. *J. Cell. Mol. Med*. 2008;12(3):743-761.
14. Garrido C, Brunet M, Didelot C, Zermati Y, Schmitt E, Kroemer G, 2006. Heat shock proteins 27 and 70: antiapoptotic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle* 2006;5: 2592-601.
15. Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Meriin AB, Sherman MY, Morimoto RI, Massie B. The chaperone function of hsp70 is required for protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol*. 2000;20: 7146-59.
16. Yamashita H, Nishio M., Toyama T., Sugira H., Zhang Z., Kobayashi S., and Iwase H. Coexistensi of HERE2 Over-Expressing and p53 Protein Accumulation is a Strong Prognostic Molecular Marker in Breast Cancer. *American Journal of Pathology*, March, 2004; 164(3):1031-1038.
17. Jack, December. Expression of Maspin Caspase-3 and COX-2 in Human Cervical Cancer and Influence of Sinomenine and DDP on It. *Medical Research*.2011

18. Tae-Jin Lee, Eun Jung Kim, Shin Kim, Eun Mi Jung, Jong-Wook Park, Seung Hun Jeong, Sang Eun Park, Young Hyun Yoo and Taeg Kyu Kwon. Caspase-dependent and caspase-independent apoptosis induced by evodiamine in human leukemic U937 cells. *Mol Cancer Ther* 2006;5:2398-2407.
19. Salvesen GS. "Caspases: opening the boxes and interpreting the arrows". *Cell Death Differ*. 2002;9(1): 3-5.
20. Boatright KM, Salvesen GS. "Mechanisms of caspase activation". *Curr Opin. Cell Biol*. 2003;15(6): 725-31.
21. Walters J, Pop C, Scott FL, et al. "A constitutively active and uninhibitable caspase-3 zymogen efficiently induces apoptosis". *Biochem. J*. 2009;424(3): 335-45.
22. Fernandes-Alnemri T, Litwack G, Alnemri ES. CPP32, a novel human apoptotic protein with homology to *Caenorhabditis elegans* cell death protein Ced-3 and mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *J. Biol. Chem*. 1994;269(49): 30761-4.
23. Kenneth, W., et al, Paraffin Section Storage and Immunohistochemistry: Effects of Time, Temperature, Fixation, and Retrieval Protocol with Emphasis on p53 Protein and MIB1 Antigen. 2000;8:61-70.
24. Yemelyanova A., et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Modern Pathology*. 2011;24:1248-1253 Scion Publishing Limited. UK, hal 45-96.